

Il ricambio respiratorio ed il metabolismo dell'acido acetacetico nel fegato di ratti diabetici per allossana

In ricerche condotte da uno di noi e collaboratori¹ su cani spancreati si metteva in evidenza che in queste condizioni il fegato non presenta alcuna variazione del consumo di ossigeno mentre è intensamente diminuita la produzione di anidride carbonica e, di conseguenza, risulta diminuito il Q.R. D'altra parte la produzione di acido acetacetico e di corpi chetonici totali è intensamente aumentata.

Nella stessa nota su citata si riferiva che la somministrazione ai cani spancreati di pancreas crudo (lipocaico) nel mentre non provoca alcuna evidente modificazione del consumo di O_2 della e produzione di CO_2 , quindi del Q.R., riporta però la produzione di corpi chetonici a valori che in alcuni casi sono addirittura inferiori a quelli normali. La diminuzione dei corpi chetonici veniva riferita ad una loro trasformazione in glucosio, processo che non implica alcuna variazione del Q.R., e che, d'altra parte, è in accordo con i risultati degli esperimenti di DRAGSTEDT² secondo i quali la somministrazione di lipocaico ad animali spancreati provoca un aumento della escrezione urinaria di glucosio.

Ciò premesso, con le ricerche riferite in questa nota si è voluto indagare se, ed eventualmente in qual senso, variasse il Q.R. e la quantità di acido acetacetico nel fegato degli animali allossenati: in queste condizioni il lipocaico viene normalmente prodotto dal pancreas e vi è solamente un deficit insulinico determinato dalla distruzione delle beta-cellule: quindi le alterazioni epatiche avrebbero dovuto essere analoghe a quelle degli animali spancreati trattati con lipocaico.

Metodi. Sono stati usati ratti albini, del ceppo Wistar-Glaxo, di sesso maschile, del peso di circa 180 g, alimentati *ad libitum* con dieta standard da laboratorio e trattati con 250 mg di allossenato pro chilogrammo di peso. Tutti gli animali venivano sacrificati dopo un digiuno di 18 h circa. Le determinazioni del ricambio respiratorio - Q.R. - sono state eseguite secondo il metodo diretto di Warburg per la durata di 2 h. Trascorso questo tempo si determinava nel liquido di incubazione l'acido acetacetico e l'acetone prodotti secondo il metodo di GREENBERG e LESTER³ modificato da BARKULIS e LEHNINGER⁴.

Risultati e discussione. Dai risultati esposti nella tabella si può ricavare che nel fegato dei ratti con *diabete*

di lieve entità (glicemia a digiuno di g 1,60–1,80/1000 e curva da carico glucidico di tipo nettamente diabetico) non vi è alcuna variazione sia del consumo di O_2 che della produzione di CO_2 . Quindi il Q.R. non cambia. Inoltre la quantità di acido acetacetico prodotta è del tutto normale. Nei ratti con diabete da allossenato più grave ma senza chetosi il consumo di O_2 non varia, ma diminuisce la produzione di CO_2 , quindi anche il Q.R., e la quantità di acido acetacetico che compare nel Ringer di incubazione è del tutto normale. Queste alterazioni metaboliche sono analoghe a quelle riscontrate nel fegato di animali spancreati trattati con lipocaico. Nei ratti con diabete grave e chetosi il consumo di O_2 diminuisce, la produzione di CO_2 si abbassa così intensamente che il Q.R. risulta di appena 0,40 e l'acido acetacetico aumenta nel liquido di incubazione di circa il 50%. Queste alterazioni metaboliche presentano numerose analogie con quelle che insorgono nel fegato di animali spancreati non trattati con lipocaico. L'unica differenza consiste nel fatto che nei ratti allossenati il consumo di O_2 diminuisce, e nei cani spancreati non trattati con lipocaico rimane invece normale. Non si può escludere che questa differenza debba venir riferita alla diversa specie degli animali impiegati.

F. Rossi, C. R. Rossi e
C. S. Rossi

*Istituti di Patologia Generale e di Chimica Biologica,
Università di Padova, Italia, il 5 marzo 1957.*

Résumé

Dans le foie du rat diabétique par alloxane mais sans cétose, il y a une diminution de Q.R. sans aucune variation de la consommation d' O_2 et de la production d'acide acétacétique, tandis que dans le foie du rat diabétique par alloxane avec cétose, la diminution de Q.R. est accompagnée aussi d'une diminution de la consommation d' O_2 et d'une augmentation de la production d'acide acétacétique.

Il sistema enzimatico ossidasico degli acidi grassi nel fegato di ratti diabetici per allossenato*

I risultati della nota precedente¹ mal si accordano con l'opinione, largamente diffusa, che il deficit insulinico provochi un aumento dei processi ossidativi degli acidi grassi: in tal caso, infatti, la diminuzione del Q. R. avrebbe dovuto essere accompagnata da un aumento sia del consumo di ossigeno che della produzione di acido

* Seconda parte.

¹ F. Rossi, C. R. Rossi e C. S. Rossi, Exper. 13, 325 (1957).

Tipo di esperimento	mm ³ O_2 % ing fegato secco	Quoziente respiratorio	Glicemia g/1000 cm ³	Chetonemia mg % cm ³	Acido acetacetico + acetone: γ % mg fegato secco
a) Ratti controllo	287 ± 97	0,93 ± 0,09	—	—	39 ± 6
b) Ratti con diabete lieve*	372 ± 0,5	0,93 ± 0,04	da 1,6 a 1,8	1,47	53 ± 24
c) Ratti con diabete medio	318 ± 55	0,75 ± 0,06	superiore a 3,0	da 2,42 a 5,98	48 ± 11
d) Ratti con diabete grave e chetosi . . .	138 ± 0	0,48	superiore a 3,8	20,00	75

Tavola. Ricambio respiratorio e produzione di acido acetico da parte di fettine di fegato di ratti normali e diabetici per allossenato.

* Questi ratti presentano una curva da carico glucidico di tipo nettamente diabetico.

Calcolo statistico: 1° Consumo di O_2 : t di Student fra a e c = 0,66 → $P > 0,50$

t di Student fra a e b = 1,16 → $P > 0,30$

2° Q. R.: t di Student fra a e c = 3,60 → $P > 0,01$

acetacetico. Comunque sia, i risultati riferiti erano di difficile interpretazione in quanto le analisi erano state compiute *in vitro* su fettine di fegato nelle quali si svolgono, sia pure in condizioni ben lontane dalle fisiologiche, numerosi processi metabolici della cellula epatica; quindi eventuali variazioni del ricambio respiratorio e della produzione di acido acetacetico, dipendenti dal variare dell'intensità dei processi ossidativi degli acidi grassi, avrebbero potuto essere mascherati dal variare di altri processi metabolici. Per queste ragioni le ricerche riferite in questa nota sono state compiute determinando esclusivamente l'intensità di azione dei sistemi enzimatici ossidasici degli acidi grassi.

Metodi. Ratti albini, del ceppo Wistar-Glaxo, di sesso maschile, del peso di circa 180 g alimentati *ad libitum* con dieta standard da laboratorio, sono stati trattati con 250 mg di allossana pro chilogrammo di peso. Tutti gli animali venivano sacrificati dopo un periodo di digiuno di circa 18 h.

L'attività del sistema enzimatico ossidasico degli acidi grassi, estratto dal fegato secondo le modalità descritte da LEHNINGER², è stata dedotta dalla quantità di ossigeno consumata durante l'ossidazione dell'acido caprilico, misurata secondo la tecnica manometrica di Warburg (vedi tabella, colonna A). L'acido acetacetico formatosi è stato determinato con il metodo di GREENBERG e LESTER³ modificato da BARKULIS e LEHNINGER⁴ e dalla quantità di acido acetacetico trovato si è calcolata la quantità di ossigeno teoricamente occorsa per la sua formazione (vedi tabella, colonna B). La differenza fra l'ossigeno totale consumato (colonna A) e quello occorso per formare l'acido acetacetico (colonna B) è espresso in tabella nella colonna A-B e misura quella quota di acido caprilico che è stata ossidata senza aver dato luogo ad acido acetacetico. Come attivatore del sistema enzimatico è stato usato A.T.P. Per le descrizioni dettagliate della modalità di tecnica impiegate rimandiamo ad altra nota⁵.

Risultati e discussione. I risultati di queste ricerche dimostrano che il deficit insulinico (diabete per allossana) non provoca nel fegato alcun aumento dell'azione dei sistemi enzimatici ossidasici degli acidi grassi; questa, anzi, nei casi di diabete grave con chetosi è addirittura diminuita.

Dal confronto dei risultati su esposti con quelli riferiti in altra nota¹ si può ricavare:

a) Nelle fettine di fegato di ratti con diabete medio senza chetosi la quantità di acido acetacetico è normale, e questo è in accordo col fatto che l'attività del sistema enzimatico ossidasico degli acidi grassi non subisce alcuna variazione. Nelle fettine di fegato di ratti con diabete grave e chetosi la quantità di acido acetacetico aumenta; tale aumento non deve essere riferito ad una aumentata ossidazione degli acidi grassi – il sistema enzimatico ossidasico di questi è infatti diminuito – ma, con ogni probabilità, alla diminuzione della normale utilizzazione dell'acido acetacetico prodotto.

b) Nelle fettine di fegato di ratti con diabete medio senza chetosi il consumo di O₂ non varia; è noto, però, che il metabolismo glucidico è diminuito, bisogna quindi ammettere che la diminuzione del consumo di O₂, determinata dalla diminuzione del metabolismo glucidico, sia compensata dall'aumento di un altro metabolismo: questo non è certamente il lipidico in quanto il sistema enzimatico ossidasico degli acidi grassi non subisce alcuna variazione. Ricerche di uno di noi *et al.*⁶ fanno pensare che si tratti del metabolismo proteico. Nelle fettine di fegato di ratto con diabete grave e chetosi il consumo di O₂ diminuisce: questo fatto è determinato, almeno in parte, dalla intensa diminuzione dell'attività del sistema ossidasico degli acidi grassi.

c) Nelle fettine di fegato sia del diabete medio come nel diabete grave con chetosi il Q.R. diminuisce: con ogni probabilità questo comportamento è determinato dal fatto che al normale metabolismo glucidico, che decorre con Q.R. elevato, si sostituiscono altri processi metabolici che decorrono con Q.R. più bassi: fra questi sembra esservi il metabolismo proteico⁶.

Per quanto riguarda l'intenso abbassamento del Q.R. (0,48) del fegato di ratti diabetici con chetosi, si può notare che in tal caso tutto l'O₂ consumato durante l'ossidazione dell'acido caprilico viene impiegato per la formazione dell'acido acetacetico (vedi tabella), mentre nei ratti normali ed in quelli con diabete, ma senza chetosi, solo il 70–80% dell'O₂ viene impiegato per la formazione dei corpi chetonici. È evidente quindi che nel caso del fegato dei ratti diabetici e chetosici si svolge un processo – ossidazione degli acidi grassi solo fino alla formazione di acido acetacetico – che avviene con consumo di O₂ ma senza produzione di CO₂, quindi con un Q.R. eguale a zero.

F. Rossi, C. R. Rossi e
C. S. Rossi

*Istituti di Patologia Generale e di Chimica Biologica,
Università di Padova (Italia), il 5 marzo 1957.*

Résumé

Les auteurs ont étudié dans le foie du rat diabétique par alloxane, l'activité du système enzymateux qui a la propriété d'oxyder les acides gras. Les résultats expérimentaux obtenus ont démontré qu'il n'y a aucune augmentation de cette activité.

¹ F. Rossi e G. TOMATIS, Sperimentale (in corso di stampa).

Tipo di esperimento	A O ₂ totale consumato dal sistema enzimatico	B O ₂ impiegato per la formazione di Acido acetacetico	A-B	Percentuale di O ₂ impiegato per la formazione dell'acido acetacetico
Ratti di controllo	5,93 ± 2,27	4,06 ± 3,46	1,87 ± 1,00	68,4%
Ratti con diabete medio	6,15 ± 0,86	5,15 ± 1,93	1,00 ± 0,84	83,7%
Ratti con diabete grave e chetosi. . .	2,14 ± 0,33	2,17 ± 0,31	0,00	100,0%

t di Student fra A dei controlli ed A dei diabetici gravi = 4,49 (altamente significativo). Le differenze fra le altre medie non presentano alcuna significatività statistica.

² A. L. LEHNINGER, J. biol. Chem. 161, 437 (1945).

³ L. A. GREENBERG e D. LESTER, J. biol. Chem. 154, 177 (1944).

⁴ S. S. BARKULIS e A. L. LEHNINGER, J. biol. Chem. 190, 339 (1951).

⁵ C. R. Rossi, Giorn. Biochim. 5, 29 (1956).

⁶ F. Rossi e G. TOMATIS, Sperimentale (in corso di stampa).